

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2001-330606

(43)Date of publication of application : 30.11.2001

(51)Int.CI.

G01N 33/53  
 G01N 31/22  
 G01N 33/566  
 // C12Q 1/68  
 G01N 1/00  
 G01N 1/10  
 G01N 35/00  
 G01N 35/10

(21)Application number : 2000-147606

(71)Applicant : WATANABE SHINYA  
 NIPPON LASER & ELECTRONICS  
 LAB

(22)Date of filing : 19.05.2000

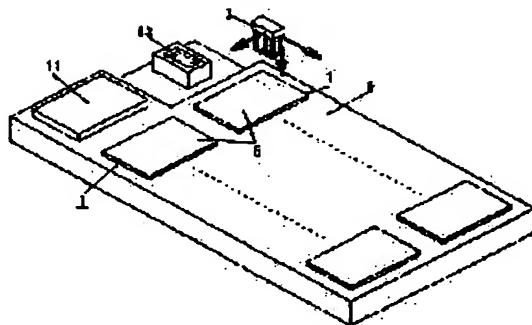
(72)Inventor : WATANABE SHINYA  
 KON KATSUNORI

## (54) SAMPLE CHIP PREPARING METHOD

## (57)Abstract:

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To provide a sample chip preparing method, capable of effectively preventing the mutual cross contamination of specimen solutions due to the excess specimen solution bonded to the tip part of a dispensing needle and capable of enhancing the dispensing density of the specimen solution, with respect to a glass substrate to ensure a large number of specimens by a reduced number of chips.

**SOLUTION:** The tip surface of the dispensing needle, having the specimen solution stored in the slivered groove extending axially to the tip part thereof, is brought into contact with a specimen substrate to dispense a very small amount of the specimen solution to form a specimen chip. The tip part of the dispensing needle is immersed in the specimen solution, to store the specimen solution in the slivered groove and the tip of the dispensing needle is brought into contact with a water-absorbing member, to remove the excess specimen solution stuck to the tip part of the dispensing needle. As a result of this constitution, when the tip of the dispensing needle is brought into contact with the specimen substrate to dispense the specimen solution, the dispensing amount of the specimen solution is made almost constant, to prevent the mutual cross contamination of the specimen solutions.



## LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開2001-330606

(P2001-330606A)

(43)公開日 平成13年11月30日 (2001.11.30)

(51)Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マコ-ト(参考)
G 0 1 N 33/53		G 0 1 N 33/53	M 2 G 0 4 2
31/22	1 2 1	31/22	1 2 1 P 2 G 0 5 8
33/566		33/566	4 B 0 6 3
// C 1 2 Q 1/68		C 1 2 Q 1/68	A
G 0 1 N 1/00	1 0 1	G 0 1 N 1/00	1 0 1 K

審査請求 未請求 請求項の数 5 OL (全 6 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願2000-147606(P2000-147606)

(22)出願日 平成12年5月19日 (2000.5.19)

(71)出願人 500089033  
渡辺 健哉  
東京都港区白金台3-18-8-804

(71)出願人 000230467  
日本レーザ電子株式会社  
名古屋市熱田区三本松町20番9号  
(72)発明者 渡辺 健哉  
東京都港区白金台3-18-8-804  
(72)発明者 今 勝憲  
名古屋市熱田区三本松町20番9号 日本レーザ電子株式会社内  
(74)代理人 100081466  
弁理士 伊藤 研一

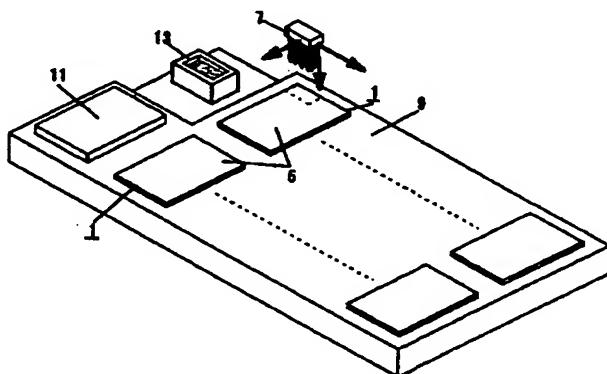
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 試料チップ作製方法

(57)【要約】

【課題】分注針の先端部に付着した余剰試料溶液による試料溶液相互の交差汚染を有効に防止することができる試料チップ作製方法の提供。ガラス基板に対する試料溶液の分注密度を高くして少ないチップ数にて大量の試料数を確保することができる試料チップ作製方法の提供。

【解決手段】先端部軸線方向に延びる縦割り溝内に試料溶液が溜められた分注針の先端面を試料基板上に接合して試料溶液を微量で分注して試料チップを作製する。分注針先端部を試料溶液内に浸漬して縦割り溝内に分注される試料溶液を溜めた後に分注針先端を吸水体に接合して先端部に付着した余剰試料溶液を除去可能にする。これにより分注針の先端を試料基板に接合して試料溶液を分注する際に、試料溶液の分注量をほぼ一定にして試料溶液相互の交差汚染を防止する。



## 【特許請求の範囲】

【請求項1】先端部軸線方向に延びる縦割り溝内に試料溶液が溜められた分注針の先端面を試料基板上に接合して試料溶液を微量で分注して試料チップを作製する方法において、分注針先端部を試料溶液内に浸漬して縦割り溝内に分注される試料溶液を溜めた後に分注針先端を吸水体に接合して先端部に付着した余剰試料溶液を除去可能にした試料チップ作製方法。

【請求項2】請求項1において、吸水体は珪藻土を主成分とする焼成材からなる試料チップ作製方法。

【請求項3】請求項1において、吸水体は合成樹脂繊維及び天然繊維のいずれかからなる極微細繊維を不織布に形成してなる試料チップ作製方法。

【請求項4】請求項3においては、不織布の表面には分注針先端面より小さい大きさからなる多数の孔が形成された網シートを積層してなる試料チップ作製方法。

【請求項5】請求項3又は4において、不織布内には吸水剤を設けた試料チップ作製方法。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明が属する技術分野】この発明は、試料基板としてのガラス基板上に、DNAやオリゴヌクレオチド等の遺伝子や必要により蛍光標識された多成分物質等の各種試料をドットマトリックス状に微量分注（ナノ・リットル単位）して固定させて試料チップを作製する試料チップ作製方法、詳しくはガラス基板に対する試料溶液の分注に先だって分注針の先端部に付着した余剰試料溶液を除去して試料チップを作製する方法に関する。

## 【0002】

【発明が解決しようとする課題】例えばDNAやオリゴヌクレオチド等の遺伝子発現態様の研究においては、ガラス基板上に多種類で多数の遺伝子をドットマトリックス状に微量分注して固定した試料チップ（マイクロアレイ、DNAチップ）を使用している。

【0003】この試料チップを作製する際には、先端面の直径が約50～200μmで、先端面中心に軸線方向に延びる縦割り溝が形成された分注針を使用し、ガラス表面に対する分注作業に先立って分注針の先端部を試料溶液内に浸漬して試料溶液を毛細管現象により縦割り溝内に浸入させて溜めた後、該分注針とガラス基板とを、例えば相互間隔が約200μmになるように二次元方向へ相対移動させながら分注針の先端をガラス基板の表面に接合して縦割り溝内の試料溶液をその表面張力により微量付着させる、所謂スタンプ方式にて作製している。

【0004】しかしながら、上記方法により試料溶液を分注開始する際、試料溶液中から取り出された分注針の先端部外周面に余分な試料溶液が付着しているため、この状態で分注針をガラス基板表面に接合すると、図9に示すように分注初期にはガラス基板の表面に縦割り溝内から流出する試料溶液と共に先端部外周面に付着した試

料溶液も同時に分注されて試料溶液のドット径が大きくなり、分注された試料溶液相互が混ざり合って交差汚染する問題を有している。

【0005】このため、分注初期の試料にあっては、当然のことながら遺伝子発現態様を正確に検証できなかつた。

【0006】特に、同一のガラス基板上に異なる種類の試料溶液を分注して試料チップを作製する際には分注切換後の試料溶液と分注切換前の異なる種類の試料溶液が交差汚染し合い、遺伝子発現態様を正確に検証できなかつた。

【0007】この欠点は、ガラス基板の表面に分注される試料溶液のドット配列間隔を広くすることにより試料溶液相互の交差汚染をある程度防止できるが、ガラス基板、1枚当りの分注可能数が少くなり、遺伝子発現態様の検証に使用する試料チップ数が多くなり、検証作業効率が悪くなると共に検証に時間がかかっていた。

【0008】本発明は、上記した従来の欠点を解決するために発明されたものであり、その課題とする処は、分注針の先端部に付着した余剰試料溶液による試料溶液相互の交差汚染を有效地に防止することができる試料チップ作製方法を提供することにある。

【0009】本発明の他の課題は、ガラス基板に対する試料溶液の分注密度を高くして少ないチップ数にて大量の試料数を確保することができる試料チップ作製方法を提供することにある。

## 【0010】

【課題を解決するための手段】本発明は、先端部軸線方向に延びる縦割り溝内に試料溶液が溜められた分注針の先端面を試料基板上に接合して試料溶液を微量で分注して試料チップを作製する際に、分注針先端部を試料溶液内に浸漬して縦割り溝内に分注される試料溶液を溜めた後に分注針先端を吸水体に接合して先端部に付着した余剰試料溶液を除去可能にする。これにより分注針の先端を試料基板に接合して試料溶液を分注する際に、試料溶液の分注量をほぼ一定にして試料溶液相互の交差汚染を防止する。

## 【0011】

【発明の実施形態】以下、本発明の実施形態を図に従つて説明する。図1～図4に示すように、試料チップ1を作製する際に使用する分注針3はステンレス製又はセラミック製の軸材で、その先端部は先端面の直径が約50～400μmになるように先端鋭利なテーパ形に形成されている。そして分注針3の先端部には先端面中心にて軸線方向へ分割する微小間隙幅の縦割り溝縦割り溝3aが形成されている。

【0012】この分注針3は、所定の間隔、例えば試料基板としてのガラス基板5に対する試料の固定ピッチである約200μmの間隔において相互の軸線が平行で、かつ各先端面相互が一致するように多数本（16本、又

はこれの倍数本)を集積固定した分注針集積体7として使用する。

【0013】上記した分注針集積体7はガラス基板5の表面に対してX軸及びY軸方向へ、例えばガラス基板5に対する試料の固定ピッチである約200μmの間隔で移動制御される可動体(図示せず)に取り付けられたZ軸方向(上下方向)の昇降部材(図示せず)に、各分注針3の先端面がガラス基板5の表面に対して微小間隔をおいて相対するように取り付けられる。また、ガラス基板5が載置される試料台9には吸水体としての吸水板11及び試料溶液容器13が夫々配置される。

【0014】吸水板11は珪藻土を主成分とし、アルミナ、カルシウム、マグネシウム等を添加して焼成した所定の厚さからなる焼成物からなる。吸水体12としては図4(A)に示すように合成樹脂繊維(例えばポリプロピレン繊維)、セルロース繊維、綿等の極微細繊維を所定厚さに圧縮してシート状不織布に形成した吸収繊維層12aの表面に、多数の微小開口(10~200μm以下)14aが形成されたポリアミド樹脂シート等の合成樹脂フィルムやアルミニウム箔等の網シート14を単層若しくは複数層、積層した物でもよい。

【0015】また、吸水体12を吸収繊維層12aで構成する場合には図4(B)に示すように吸収繊維層12a内に吸水剤12bを配置した構成であってもよい。この吸水体12にあっては吸収繊維層12aを低含水状態に保ち、各分注針3の先端部外周面に付着した余剰試料溶液2aを長期にわたって安定的に吸収することができる。

【0016】次に、図5及び図6を参照して試料チップ1の作製方法を説明すると、先ず可動体をX軸方向及びY軸方向へ移動制御して分注針集積体7を試料溶液容器13の上方へ移動させた後、昇降部材を作動して分注針集積体7における各分注針3の先端部を試料溶液2内に浸漬させる。これにより各分注針3における縦割り溝3a内に対して試料溶液2を毛細管現象により浸入させる。

【0017】次に、昇降部材を逆方向へ作動して分注針集積体7における各分注針3の先端部を試料溶液容器13の試料溶液2中から引き上げた後、可動体をX軸方向及びY軸方向へ移動制御して分注針集積体7を吸水板11の上方へ移動させる。試料溶液容器13の試料溶液2中から引き上げられた各分注針3の先端部外周面には余剰試料溶液2aが付着している。(図5参照)

【0018】次に、昇降部材を作動して分注針集積体7における各分注針3の先端面を吸水板11の表面に接触させて先端部外周面に付着して余剰試料溶液2aを吸水させる。(図6参照)

【0019】このとき、先端部外周面に付着した余剰試料溶液2aと共に縦割り溝3a内に溜められた試料溶液2も吸水板11により吸水されるため、吸水板11に対

する各分注針3先端面の接触時間を、先端部外周面に付着した余剰試料溶液2aが完全に除去可能で、縦割り溝3a内から流出する試料溶液量が最小になるように調整する必要がある。

【0020】次に、各分注針3における先端部外周面に付着した余剰試料溶液2aが吸水板11により吸水除去された分注針集積体7をX軸方向及びY軸方向へ移動制御してガラス基板5における分注開始位置へ移動させた後、昇降部材を作動して分注針集積体7における各分注針3の先端面をガラス基板5の表面に接合し、各分注針3の縦割り溝3a内に溜められた試料溶液2を表面張力により流出させてドット状に微量分注させる。

【0021】このとき、ガラス基板5に対する試料溶液2の分注量は該試料溶液2の表面張力に依存しているため、ガラス基板5上に分注される試料溶液量をほぼ均一にさせることができる。

【0022】そして分注針集積体7をX軸及びY軸方向へ移動制御してガラス基板5上に大量の試料溶液を所定の間隔をおいたドット状に微量分注して固定することにより試料チップ1を作製する。

【0023】実施例

緑色蛍光色素、赤色蛍光色素、黄色蛍光色素(緑色蛍光色素と赤色蛍光色素の混合蛍光色素)及び水を添加したオリゴヌクレオチドからなる各合成DNAを使用し、ガラス基板(76×26mm)、一枚当たり、1600ドットで分注し、連続して84枚の試料チップを作製し、各試料チップにおける試料の交差汚染状態を測定した。

(一枚の試料チップを図7に、また84枚目の試料チップを図8に示す)

各試料チップにおいて分注された試料溶液の交差汚染は確認されなかった。

【0024】

【発明の効果】本発明は、分注針の先端部に付着した余剰試料溶液によるガラス基板上での試料溶液相互の交差汚染を有効に防止することができる、また、ガラス基板に対する試料溶液の分注密度を高くして少ないチップ数にて大量の試料数を確保することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】試料チップ作製方法を示す説明図である。

【図2】分注針の全体を示す斜視図である。

【図3】図2のA箇所を拡大して示す説明図である。

【図4】(A)及び(B)は吸水体の変更例を示す説明図である。

【図5】分注針先端部に対する余剰試料溶液の付着状態を示す説明図である。

【図6】余剰試料溶液の吸水状態を示す説明図である。

【図7】1枚目の試料チップにおける試料溶液の分注状態を示す写真である。

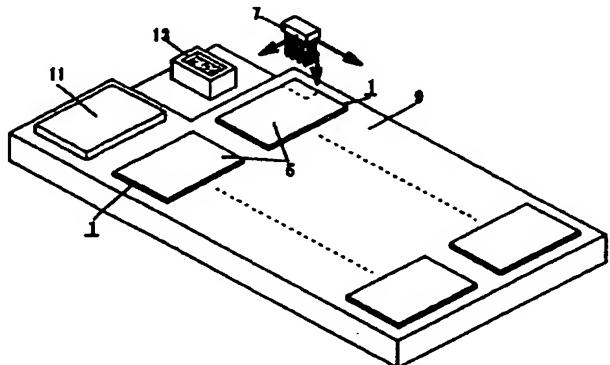
【図8】84枚目の試料チップにおける試料溶液の分注状態を示す写真である。

【図9】試料チップにおける試料溶液の交差状態を示す写真である。

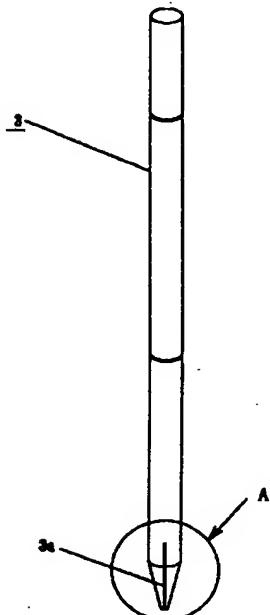
【符号の説明】

1-試料チップ、2-試料溶液、2a-余剰試料溶液、3-分注針、3a-縦割り溝、5-試料基板としてのガラス基板、11-吸水体としての吸水板

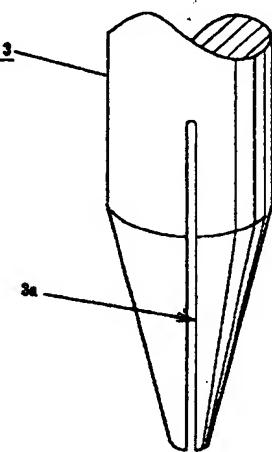
【図1】



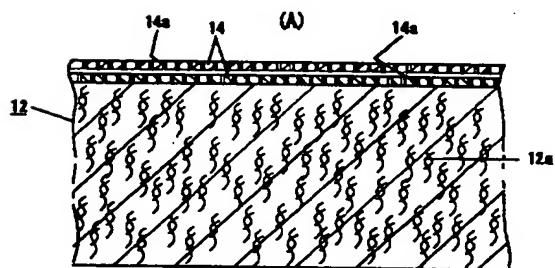
【図2】



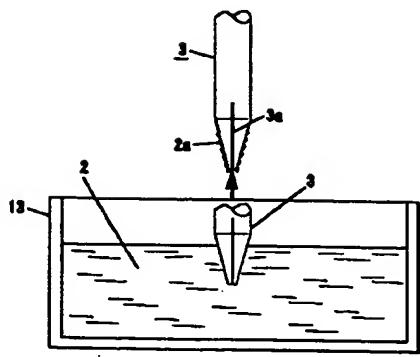
【図3】



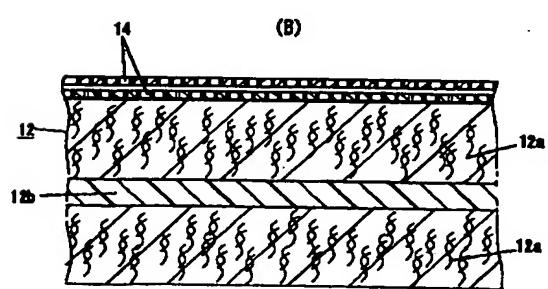
【図4】



【図5】



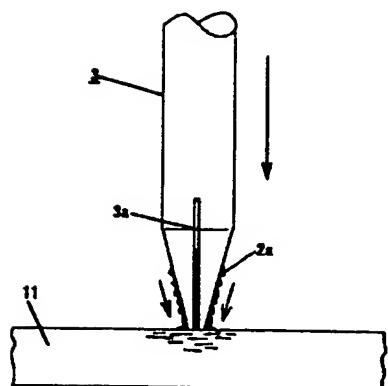
(B)



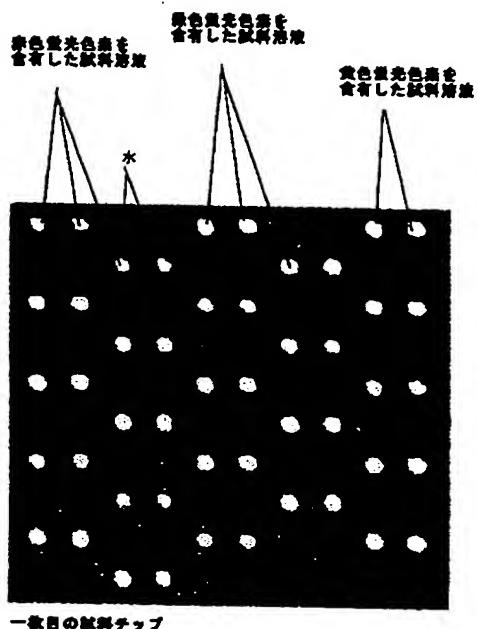
(5)

特開2001-330606

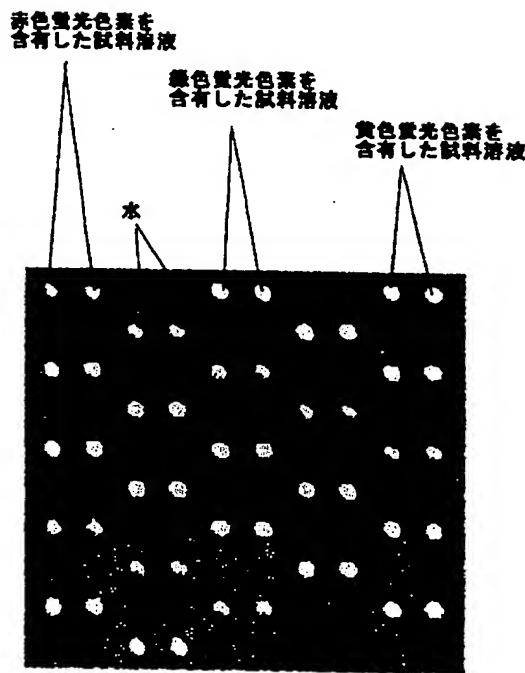
【図6】



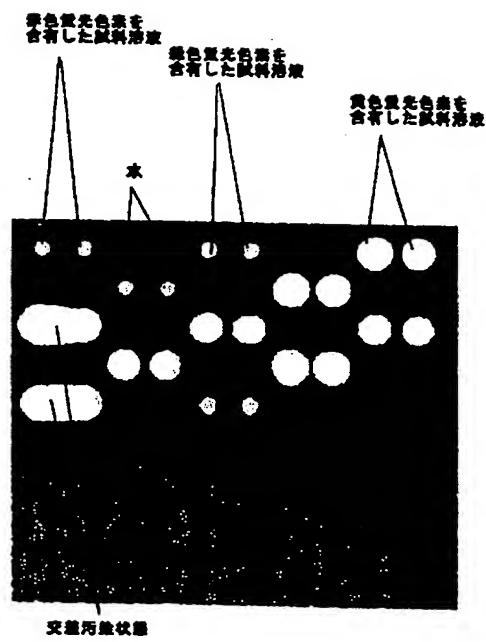
【図7】



【図8】



【図9】



## フロントページの続き

(51) Int. Cl. 7	識別記号	F I	マークコード (参考)
G 0 1 N	1/10	G 0 1 N	N
35/00		35/00	F
35/10		35/06	D
			E

F ターム (参考) 2G042 AA01 BD12 BD18 CB03 DA08  
FA11 FC02 HA07  
2G058 AA09 CC09 EA11 ED12 ED17  
ED23 ED31  
4B063 QA01 QQ42 QR32 QR55 QR66  
QR84 QS03 QS34 QS36 QS39  
QX02